HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest™

Un ensayo rapido para la deteccion cualitativa de anticuerpos del virus humano de Immunodeficiencia (HIV) tipo 1, tipo 2, y Subtipo O en sangre total, suero o plasma.

Manual de Instrucciones

Kit para 25 ensayos individuales en bolsas individuales
(Catalog No. A41112)
Kit para 50 tests individuales en bolsas individuales
(Catalog No. B41112)

Para Diagnostico *In Vitro*

Exclusivamente para uso profesional
Almacenar a 2-30°C. ***No Congelar***

Savyon® Diagnostics Ltd.
3 Habosem St. Ashdod 77610, ISRAEL
Tel.: +972.8.8562920
Fax: +972.8.8523176
E-mail: support@savyondiagnostics.com

Norma de Uso

The HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest™ es una prueba rapida inmunocromatografica para su uso en la deteccion cualitativa de anticuerpos para HIV-1, HIV-2, y Subtipo O en sangre total, suero o plasma para la ayuda en la diagnosis de infeccion HIV infection.

Resumen

HIV es el aqente etiologico del Sindrome de Inmunoindeficiencia adquirida (SIDA). El virion esta rodeado de una capa de lipidos que son derivados de la membrane de la celula huesped. Varias glicoproteinas virales estan en esta capside. Cada virus contiene dos copias de cadenas de RNA codificante HIV-1 fue aislado de pacientes con SIDA y complejo Relacionado con SIDA, y de pacientes sanos con alto riesgo potencial de desarrollar SIDA[1]. HIV-1 consiste de Subtipo M and Subtipo O. Cepas de HIV-1 altamente divergentes fueron primeramente aisladas en 1990 y agrupadas provisionalmente como Subtipo O, debido a que esta variacion tiene marcadores de glycoproteinas similares a HIV-1 pero con una pequena variacion del marcador proteico. Aunque raramente se compararon a HIV-1 y HIV-2, las infecciones causados por el Subtipo O han sido hasta ahora identificadas en Africa (Camerun), Francia y Alemania. HIV-2 ha sido aislada en pacientes provenientes del oeste de Afrrica y de individuos sueropositivos asintomaticos[2]. HIV-1, HIV-2, y Subtipo O todos provocan repuesta inmunitaria[3].La deteccion de anticuerpos de HIV en suero, plasma o sangre total es el metodo mas eficiente y comun para determinar si un individuo fue espuesto a HIV y para detectar HIV en sangre total o derivados relacionados[4].
A pesar de las diferencias en sus caracteres biologicos,actividades suerologicas y sequencias genomicas, , HIV-1, HIV-2, y Subtipo O muestran una fuerte reactividad cruzada antigénica[5,6]. La mayoria de los suero positivos para HIV-2 pueden ser identificados usando ensayos suerologicos para HIV-1
El HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest™ es un ensayo rapido para la deteccion cualitativa de anticuerpos del virus humano de Immunodeficiencia (HIV) tipo 1, tipo 2, y Subtipo O en sangre total, suero o plasma.

Principio del Procedimiento

El HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest™ es un inmunoensayo basado en membrana para la deteccion de anticuerpos del virus humano de Immunodeficiencia (HIV) tipo 1, tipo 2, y Subtipo O en sangre total, suero o plasma. La membrane es previamente cubierta con antcuepos recobinantes de HIV en la banda de ensayo, T1 y T2. La banda de ensayo t1 es pre-cubierta con antigenos para HIV-1 y Subtipo O y la banda de ensayo T2 es precubierta con antigenos para HIV-2. Duante la prueba, la muestra de sange, suero o plasma reacciona con a mezcla de antígenos de la capside y el núcleo de HIV-1 y antígenos de la capside de HIV-2 que están recubiertos de partículas de color en la tira reactiva. La mezcla de raccion fluye en la tira chromatografica por acción capilar y reacciona con los antígenos recombinantes de HIV en la membrana en la región de las bandas. Si la meustra contiene anticuerpos contra HIV-1 y/o Subtipo O o HIV-2,una banda coloreada aparece en la tira reactiva, si la meustra contiene HIV-1 y Subtipo O y HIV-2,dos una banda coloreadas aparecen en la tira reactiva. Ambas bandas indican un resultado positivo. Si la muestra no contiene anticuerpos para HIV-1 y/o Subtipo O y/o HIV-2 no se vera ninguna banda colereada en la tira reactiva indicando un resultado negative. Para servir como procedimiento de control, una banda colereada siempre aparece en la tira reactiva del control que sirve como verificaccion de que un volumen suficiente de muestra ha sido añadido y como control que ha ocurrido que absorción membranal.

Almacenamiento y Estabilidad

Almacene como está empaquetado en la bolsa sellada a temperatura ambiente o refrigerados (2-30 º C).
El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada. **NO CONGELAR.**
No lo use luego del la fecha de expiracion.

Precauciones

- Para uso professional en diagnostic *in vitro*. No lo use luego del la fecha de expiracion.
- Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes descartables y gafas protectoras durante el procedimiento.
- No coma, beba o fume en el area de trabajo.
- Manipulee as muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observar las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante la prueba y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de los especímenes.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las normativas locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar los resultados.

Coleccion de muestras y Preparacion

- • • El HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest™ se puede realizar utilizando sangre total total (de venopunción o punción en el dedo), suero o plasma.
- Para colectar muestras de sangre total por punción capilar:
- Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón o limpiar

con un algodón empapado en alcohol. Deje que se seque

- Masaje la mano sin tocar el sitio de la punción frotando hacia abajo la mano hacia la punta del dedo del medio o el dedo anular.
- Pinche la piel con una lanceta nueva y estéril para cada persona. Limpie la primera señal de la sangre.
- Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma de los dedos para formar una gota redonda de sangre en el sitio de punción.
- Añada la muestra de sangre total por punción dactilar al dispositivo de prueba mediante el uso de un tubo capilar:
- Toque el extremo del tubo capilar con la sangre hasta que se han llenado de aproximadamente 50 μl. Evite las burbujas de aire.
- Coloque la bombilla en el extremo superior del tubo capilar, a continuación, presione la perilla para dispensar la sangre total encima del pocillo de la muestra (S) del dispositivo de prueba.
- Añada la muestra de sangre total por punción dactilar en el dispositivo de prueba mediante goteo:
- Coloque el dedo del paciente para que la gota de sangre es justo por encima del pocillo de la muestra (S) del dispositivo de prueba.
- Permita que 2 gotas colgantes de sangre total por punción dactilar caigan en el centro del pocillo de la muestra (S) en el dispositivo de prueba, o muevan el dedo del paciente de manera que la gota colgante toca el centro del pocillo de la muestra (S). Evite tocar con el dedo directamente el pocillo de la muestra (S).
- Separar el suero o plasma de sangre tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis. Utilice sólo claras muestras, no hemolizadas
- La prueba debe realizarse inmediatamente después de la recogida de muestras. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Suero y plasma las muestras pueden conservarse a 2-8° C durante un máximo de 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de 20 ° C. Sangre total extraída por punción venosa debe ser almacenado a 2-8 ° C si el análisis se va a realizar dentro de los 2 días de recolección. No congelar las muestras de sangre total. Sangre total recogidas por punción digital debe ser probado de inmediato
- Llevar las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben ser congeladas y descongeladas repetidamente ..
- • Si las muestras deben ser enviadas, deben ser empacados en el cumplimiento de las normas locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

Materiales

Materiales Proporcionados

- dispositivo de prueba
- Cuentagotas
- Solucion tampon
- Prospecto

Materiales Requeridos pero no proporcionados

- Recipientes de recogida de muestras
- Lancetas (para sangre total por punción dactilar solamente)
- Centrifuga
- Cronometro
- Tubos capilares heparinizados y bulbo de distribución (para la sangre total por punción dactilar solamente)

Instrucciones de uso

Permita el dispositivo de prueba , la muestra, la solucion de tampón y/o controles para llegar a la temperatura ambiente (15- 30 ° C) antes de la prueba

1. Retire el dispositivo de prueba de la bolsa de aluminio y uselo tan pronto como sea posible. Se obtendrán mejores resultados si el ensayo se realiza dentro de una hora.
2. Coloque la placa en una superficie limpia y nivelada.

Para <u>suero o plasma</u>: Sostenga el gotero verticalmente y **transfiera 1 gota de suero o plasma** (aproximadamente 25 μl) al pocillo de la muestra (S) del dispositivo de prueba, a continuación, **agrege 1 gota de solución tampón** (aproximadamente 40 μl) e inicie el chronometro. Vea la ilustración de abajo.

Para uso con muestras **de sangre total por venopuncion** : Sostenga el gotero verticalmente y **transfiera 2 gotas de sangre total** (aproximadamente 50 μl) al pocillo de la muestra (S) del dispositivo de prueba, a continuación, **agrege 2 gotas de solución tampón** (aproximadamente 80 μl) y inicie el chronometro. Vea la ilustración de abajo.

Para muestras de sangre total por puncion dactilar :

- Utilizando un tubo capilar: Llene el tubo capilar y **transfiera aproximadamente 50 μl** de punción digital de sangre total al pocillo de la muestra (S) del dispositivo de prueba, a continuación, **agrege 2 gotas de solución de tampón** (aproximadamente 80 μl) y inicie el chronometro. Vea la ilustración de abajo.
- Para usar las gotas colgantes: **permita que 2 gotas colgantes de la muestra de sangre total** por punción digital (aproximadamente 50 μl) caigan en el centro del pocillo de la muestra (S) en el dispositivo de prueba, a continuación, **agrege 2 gotas de solución de tampón** (aproximadamente 80 μl) y inicie el chronometro. Vea la ilustración de abajo.

3. Espere a que la línea(s) de color en aparezcan. **Lea los resultados a los 10 minutos**. No lea los resultados después de 20 minutos.

•

1 Drop of Serum or Plasma
1 Drop of Buffer
2 Drops of Venipuncture Whole Blood
2 Drops of Buffer
50 μL of Fingerstick Whole Blood
2 Drops of Buffer
2 Drops of Fingerstick Whole Blood
2 Drops of Buffer
HIV
T1: HIV 1/O
T2: HIV 2
C
T1
T2
S
Positive
Negative
Invalid

Interpretacion de lo Resultados

(Por favor refiérase a la ilustración de arriba)
POSITIVO: * Aparecen dos o tres líneas de colores distintos. Una línea debe aparecer siempre en la región de control (C), y la otra una o dos líneas de color aparente (s) debe aparecer en la zona de la prueba (s) (T1 y / o T2).
*** NOTA:** La intensidad del color en la zona de la prueba (T1 y T2) variará dependiendo de la concentración de anticuerpos contra el HIV presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la zona de la prueba (T1 y / o T2) debe ser considerado positivo.
NEGATIVO: Una línea roja aparece en la región de control (C). No hay líneas de colores aparentes aparecen en las regiones de la prueba (T1 y T2).
NO VÁLIDO: La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o un procedimiento incorrecto son las posibles razones de la ausencia de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo de prueba. Si el problema persiste, deje de utilizar ese lote y

Control de Calidad

Un control interno está incluido en la prueba. Una línea coloreada que aparece en la región de control (C) es considerada como un procedimiento de control interno. Comprueba que el volumen de la muestra es suficiente, adecuada la reacción de la membrana y que el procedimiento es correcto.
Estándard de control no se suministran con el kit, sin embargo, se recomienda realizar controles positivos y negativos como buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y para comprobar el rendimiento de la prueba.

Limitaciones del ensayo

1. El HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest™ es sólo para uso diagnóstico *in vitro*. Esta prueba se debe utilizar para la detección de anticuerpos contra el HIV en la sangre total humana, suero o plasma. Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento de la concentración de anticuerpos del HIV se pueden determinar mediante esta prueba cualitativa.
2. El HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest™ sólo indica la presencia de anticuerpos contra el HIV en la muestra y no debe ser utilizado como único criterio para el diagnóstico de HIV-1, HIV-2, y/o infección subtipo O.
3. Para confirmación, se debe realizar un análisis más detallado de los especímenes, tales como ELISA y/o análisis de Western Blot.
4. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben ser interpretados junto con otra información clínica disponible al médico.
5. Esta prueba está destinada a propósitos sólo cribado. Los resultados no deben ser utilizados para determinar el serotipo del HIV.
6. Debido a la posible reactividad cruzada, la aparición de líneas en ambos T1 y T2 no indica necesariamente la co-infección de HIV-1, HIV-2 y subtipo O ni puede identificar el serotipo.

Valores Esperados

El HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest™ ha sido comparado con las principales pruebas comerciales de ELISA HIV y/o Western Blot. La correlación entre estos dos sistemas es 99,8%.

Characteristicas de Rendimiento

Clinical Sensitivity, Specificity and Accuracy
El HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest™ fue evaluada en: un estudio de campo multicentrico, un centro de donación de sangre, y tambien en un estudio clínico en el local. El estudio multicéntrico incluyó 1.640 muestras procedentes de diferentes países. Se obtuvieron 1000 ejemplares del centro de donación de sangre, y el estudio clínico de la casa incluían 687 muestras y un Panel de Performance VIH que fue comprado con otro panel comercial.
El HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest™ se comparó con los principales pruebas comerciales de ELISA del HIV y/o Western Blot. De los 3327 ejemplares en total, 872 se encontraron positivas y 2455 especímenes fueron encontrados negativos por ELISA y/o Western Blot. El HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest ™ mostró 99,9% de sensibilidad relativa, y 99,8% de especificidad relativa en comparación con ELISA y/o transferencia de Western.

HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest ™ vs ELISA y/o Western Blot

Method		ELISA and or Western Blot		Resultado Total
HIV 1/2/0 Rapid SeroTest™	**Resultados**	Positivo	Negativo	
	Positivo	871	6	877
	Negativo	1	2449	2450
		872	2455	3327

Sensibilidad relativa: 99.9% (99.4-100.0 %)*
Especificidad relativa: 99.8% (99.5-99.9%)*
Exactitud Relativa : 99.8% (99.6-99.9%)*
* Intervalo de confianza del 95%

Precision

Ensayo intra
En la serie se ha determinado mediante el uso de 10 repeticiones de cuatro ejemplares: un negativo, un positivo bajo, positivo mediano y un positivo alto. Los valores negativos, positivos bajos, medios y altos positivo positivos fueron correctamente identificados> 99% de las veces.
Ensayo inter
La precisión dentro ha sido determinado por 10 ensayos independientes sobre las mismas cuatro muestras: una negativa, un positivo bajo, positivo mediano y un positivo alto. Tres lotes diferentes del HIVSav 1/2/0 Rapid SeroTest ™ han sido probados utilizando, positivo medio y alto muestras negativas, positivas bajas positivos. Los especímenes fueron correctamente identificados> 99% del tiempo

Bibliografia

1. Chang SY, Bowman BH, Weiss JB, Garcia RE and White TJ. *The Origin of HIV-1 isolate HTLV-IIIB.* Nature (1993) 3:363:466-9.
2. Arya SK, Beaver B, Jagodzinski L, Ensoli B, Kanki PJ,Albert J, Fenyo EM, Biberfeld G, Zagury JF and Laure F. *New human and simian HIV-related retroviruses possess functional transactivator (tat) gene.* Nature (1987) 328:548-550.
3. Caetano JA. *Immunologic aspects of HIV infection*. Acta Med Port (1991) 4 Suppl 1:52S-58S.
4. Janssen RS, Satten,GA, Stramer SL, Rawal BD, O'Brien

TR, Weiblen BJ, Hecht FM, Jack N, Cleghorn FR, Kahn JO, Chesney MA and Busch MP. *New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes*. JAMA (1998) 280(1): 42-48.

5. Travers K, Mboup S, Marlink R, Gueye-Nidaye A, Siby T, Thior I, Traore I, Dieng-Sarr A, Sankale JL and Mullins C. *Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2*. Science (1995) 268:1612-1615.
6. Greenberg AE, Wiktor SZ, DeCock KM, Smith P, Jaffe HW and Dondero TJ Jr. *HIV-2 and natural protection against HIV-1 infection.* Science (1996) 272:1959-1960.